



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Micropropagation de deux variétés de papayer (*Carica papaya* L.) à l'IPR/ IFRA de Katibougou, Mali

Abdoulaye SIDIBÉ^{1*}, Maman Sani LADAN HAROUNA²,
Bakary Mamourou TRAORÉ¹, Moussa ABDOULAYE¹ et Ousmane NIANGALY¹

¹IPR/ IFRA de Katibougou, Laboratoire d'Agro-Physio-Génétique et de Biotechnologies Végétales, Mali.

²Direction Générale de l'Agriculture Niamey, Niger.

* Auteur correspondant ; E-mail : abdoulayesidibe@yahoo.fr ; Tél. : (+223) 76 31 04 40 / 66 31 04 40

RESUME

Cette étude, achevée en septembre 2014, est axée sur : la production de plantules de Solo n°8 et Bluestem pour l'obtention d'explants, la désinfection d'explants, la réalisation de 2 essais d'initiation et de prolifération, et d'un essai d'enracinement de pousses en randomisation totale. L'évaluation de l'étude a porté sur l'efficacité de la formule de désinfection d'explants, la performance des milieux d'initiation et de prolifération de deux essais comportant respectivement 6 milieux (essai 1) et 4 milieux (essai 2), tous associés à 2 types d'explants (bourgeons apicaux et axillaires), la performance de 3 milieux d'enracinement. Les résultats obtenus ont révélé que le milieu MS + 0,5 mg/l de BAP associé aux bourgeons apicaux a donné les nombres de feuilles et de pousses les plus élevés, ainsi que le meilleur délai de reprise (7 jours), le milieu MS + 0,5 mg/l BAP + 2 mg/l d'AIB associé à la variété Solo n°8 a été plus favorable à l'enracinement de pousses (33%), en nombre de racine (1), en longueur de racines (0,8 cm) par vitro plant, et en délai d'émission de racines (18 jours). Les deux variétés se valent en initiation et prolifération. Mais pour l'enracinement, la variété Solo n°8 a été la meilleure.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: AIB, BAP, bluestem, bourgeons, solo n°8.

Micropropagation of two varieties of pawpaw trees (*Carica papaya* L.) at IPR / IFRA of Katibougou, Mali

ABSTRACT

This survey, finished in September 2014, is focused on the production of two papaya varieties Solo n°8 plantlets and Bluestem for the obtaining of explants, the disinfection of explants, the realization of two (02) essays of initiation and proliferation, and of a test of shoot rooting in total randomization. The assessment of the survey carried on the efficiency of the formula of explants decontamination, the medium performance of initiation and proliferation of two tests including 6 mediums respectively (test 1) and 4 mediums (test 2), altogether to 2 types of explants (ending buds of plant and axillaries buds), the performance of 3 rooting mediums. The obtained results revealed that the MS middle + 0,5 mg/liter of BAP partner to ending buds gave numbers of leaves and the most elevated shoots, as well as the best time limit of retaking (7 days), the M S medium + 0,5 BAPS mg / liter + 2 mg / liter of AIB partner to the Solo variety n°8 were more favorable to the

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

DOI : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v11i5.17>

2474-IJBCS

rooting of shoots (33%), in number of root (1), in length of roots (0,8 cm) by plantlet, and in emitting time of root (18 days). The two varieties are the same in initiation and proliferation. But for rooting, the Solo variety n°8 was the better.

© 2017 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: AIB, BAP, bluestem, buds, plant height, solo n°8.

INTRODUCTION

L'Agriculture représente un immense défi pour le développement du Mali. En effet, environ 80% de la population y tirent leurs revenus. La majorité de celle-ci est constituée de petites exploitations familiales vulnérables pratiquant essentiellement les cultures vivrières (CEDEAO, 2008). La pratique des cultures industrielles, légumières et fruitières y est également considérable.

Au Mali, les fruits constituent une source d'aliments nécessaires pour lutter contre la malnutrition et la pauvreté, même si leur production est encore relativement faible. En effet, d'après une enquête sur les normes de consommations alimentaires en Afrique de l'ouest, la consommation en fruits d'un malien est de 3 kg / an (CILSS, 2004).

Selon faostat.org (2013), en 2011, la production nationale de fruits s'élevait à 263 000 t (équivalant à 78 900 000 000 F CFA). En 2012, la production de papaye était de 8 826 903 t à l'échelle mondiale, et 35 000 t pour le Mali. Pendant la même année, la valeur nette de la production de papaye est estimée à 1 796 456 640 000 F CFA à l'échelle du monde et 5 065 830 000 F CFA pour le Mali.

Les principales zones de production de papaye au Mali sont les régions de Sikasso, Ségou, Koulikoro, et le District de Bamako (PCDA, 2010).

Le papayer (*Carica papaya* L.) serait originaire du Mexique. Il est cultivé dans de nombreux pays tropicaux, notamment aux Antilles, au Brésil et en Amérique centrale (Fabert, 2011).

Le papayer est une plante herbacée d'une longévité de 25 ans, mais la durée de vie commerciale est de 2 à 5 ans selon les variétés et les conditions de culture. Il peut se

ramifier avec l'âge et atteindre 3 à 9 mètres (CIRAD-GRET, 2006).

Actuellement, il n'existe pas de méthode fiable pour trier les plants selon le sexe avant le développement des fleurs du papayer (PIP, 2011).

Cette espèce fruitière est principalement multipliée par voie sexuée ; ce qui engendre deux inconvénients : la séparation de sexes et les difficultés corrélatives de sélection qui en résultent d'une part, et plus de 90% des plants sont infectés par des agents pathogènes, notamment des virus, d'autre part (Dembélé, 2012).

Selon Fournet (2002), lorsque les fleurs femelles sont fécondées par des fleurs mâles, leur descendance est constituée de 50% de pieds mâles et 50% de pieds femelles. Les contaminations dues aux agents pathogènes, notamment les virus, constituent également une contrainte notoire. Cela entraîne un manque à gagner pour le producteur.

La micropropagation est un procédé de multiplication susceptible de minimiser ces problèmes. En effet, elle permet la production rapide et accrue de matériel sain, ainsi que l'amélioration génétique des variétés sélectionnées (CIDES, 1999). Cette technique représente donc un outil puissant aux perspectives industrielles et économiques importantes (Skirvin et al., 2000, cités par Hamdani, 2001).

De 1977 à nos jours, de nombreuses recherches ont été réalisées, notamment sur la micro propagation d'explants au Vietnam, aux États-Unis, en Inde, en Australie, en Égypte, au Kenya, entre autres. Parmi ces auteurs, nous mentionnons Dam Thanh (1997) ; Saker et al. (1999) et Naomi et al. (2013). Nous voudrions, à travers la présente étude, apporter une contribution en vue d'améliorer

la production de plants de papayer par la micro propagation.

Les questions de recherche sont les suivantes :

- quelles sont les aptitudes des 2 variétés de papayer (Solo N°8 et Bluestem) à la micro propagation ?
- quel est le meilleur explant (bourgeon apical ou bourgeon axillaire) pour l'obtention de pousses *in vitro* ?
- quel est le meilleur milieu d'initiation et de prolifération d'explants ?
- quel est le milieu de culture le plus favorable à l'enracinement des pousses ?

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Site

Cette étude a été menée au Laboratoire d'Agro-Physio-Génétique et de Biotechnologies Végétales de l'IPR/ IFRA. La production des plants destinés à fournir les explants est effectuée sous tunnel. La micro propagation, quant à elle, s'est déroulée dans la salle de préparation des milieux, puis en chambre de culture *in vitro* dudit laboratoire.

Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de bourgeons apicaux et de bourgeons axillaires issus de plants des variétés Solo N°8 et Bluestem. Les plants ayant servi à l'obtention de ces explants ont été produits par semis *in vitro* et en pépinière, à partir des semences locales (Variété Bluestem) et celles de TECHNISEM- Mali (Variété Solo N°8). Ces variétés présentent les principales caractéristiques suivantes :

Nous avons utilisé 3 produits pour la désinfection des explants. Il s'agit de : l'alcool 70 °, l'eau de Javel de 9 °chl et une solution d'amuchina 2,5% (Figure 12).

Autres matériels et intrants

La salle de préparation des milieux de culture (Figure 2) et quatre chambres de culture d'une capacité individuelle de 2 100 bocaux (de 10 cm de hauteur sur 7,5 de diamètre) contiennent les matériels et intrants ci-après :

Matériels

Les principaux matériels utilisés sont :

- une balance de précision à 1 / 1000 près, un pH mètre ; du papier aluminium ;
- des pinces et des scalpels, du coton pharmaceutique, une éprouvette de 1 000 ml ;
- une autoclave, un agitateur magnétique à plaque chauffante, des splits ;
- un distillateur, un distributeur automatique de milieu, un réfrigérateur ;
- des pipettes, des pissettes, des pulvérisateurs, une règle graduée ;
- deux hottes à flux laminaires munies de stérilisateur à bille à 300 degrés ;
- des tubes à essai cylindriques de 25 mm de diamètre et de 150 mm de hauteur ;
- une casserole, des bocaux de 10 cm de hauteur sur 7,5 cm de diamètre ;
- un ruban à étiqueter et un crayon à encre permanente ;
- des étagères vitrées, des portoirs à tubes ;
- un thermomètre, un chronomètre, des allumettes, des ampoules incandescentes et un appareil photo numérique.

Intrants

Les principaux intrants utilisés sont : milieux de base pour culture, régulateurs de croissance, gelrite, sucre, eau distillée, Na (OH)₂ et HCl.

Méthodes

L'étude a été menée en quatre principales étapes, qui sont : la production des plants pour l'obtention d'explants, la désinfection d'explants (bourgeons apicaux, et bourgeons axillaires de deux variétés), la réalisation de deux essais d'initiation - prolifération d'explants, la réalisation d'un essai d'enracinement des pousses.

Dispositifs expérimentaux et facteurs étudiés : Essais d'initiation et de prolifération d'explants

Deux essais complexes factoriels en randomisation totale ont été successivement installés. Ces essais se présentent ainsi qu'il suit :

- **Essai 1** : c'est un essai complexe factoriel en randomisation totale. Il comporte 3 facteurs

étudiés : la variété avec 2 niveaux de variation (Solo N °8 et Bluestem), le type d'explant avec 2 niveaux de variation (bourgeon apical, bourgeon axillaire) et le milieu de culture 6 niveaux (Tableau 3). L'essai comprend 24 traitements en 4 répétitions. Un traitement (combinaison variété x type d'explant x milieu de culture) est représenté par un tube contenant 10 ml de milieu de culture et un explant. A l'échelle de l'essai, il y a alors 96 tubes contenant chacun un explant (soit 96 unités expérimentales).

- **Essai 2** : c'est un essai complexe factoriel en randomisation totale, avec 3 facteurs étudiés : la variété avec 2 niveaux de variation (Solo N °8 et Bluestem), le type d'explant avec 2 niveaux de variation (bourgeon apical, bourgeon axillaire) et le milieu de culture à 4 niveaux de variation (Tableau 4). L'essai comporte 16 traitements en 4 répétitions. Un traitement est représenté par 1 bocal contenant 1 milieu de culture et 1 explant. A l'échelle de l'essai, il y a alors 64 bocaux contenant chacun un explant (soit 64 unités expérimentales).

Essai d'enracinement des pousses

Un dispositif en bloc complet randomisé, comportant 2 facteurs dont la variété avec 2 niveaux de variations (Solo N °8 et Bluestem) et les milieux d'enracinement pris à 3 niveaux de variation a été utilisé (Tableau 5). L'essai est constitué de 6 traitements répétés 3 fois. Chaque traitement est représenté par la combinaison des facteurs variété et milieu d'enracinement. Un bocal contient une pousse, soit 18 unités expérimentales.

Il faut noter que seules les pousses issues des meilleurs milieux d'initiation-prolifération ont été utilisées pour l'essai d'enracinement.

Composition des milieux de culture

Sources d'explants

Une des premières préoccupations dans la mise en œuvre de cette étude est l'approvisionnement en explants. Dans le souci d'en garantir une bonne disponibilité, nous nous sommes procurés de semences afin

de les cultiver aussi bien en pépinière qu'en *in vitro*.

Pépinière

Une pépinière installée sous tunnel, où deux variétés de papayer (Solo N °8 et Bluestem) sont cultivées a servi à l'obtention des explants (Figure 3). Ces derniers ont été prélevés sur des plants âgés de deux mois sur chacune des variétés citées ci-dessus.

Semis *in vitro*

Des graines de deux variétés de papayer (Solo N °8 et Bluestem) ont été d'abord prétraitées à l'eau chaude (100 °C), puis désinfectées à l'alcool, à l'eau de Javel 9° chl, à l'amuchina 2,5%, hors hotte et sous hotte; le tout, suivi de 3 rinçages à l'eau distillée stérilisée avant d'être ensemencées dans les milieux MS + 0,3 mg d'ANA. Après un mois de croissance (Figure 4 : B et C), des explants ont été prélevés sur les plantules en vue de leur micro propagation.

Préparation et désinfection d'explants

Des fragments de plantules de papayer comportant chacun en moyenne 5 bourgeons axillaires et un bourgeon apical ont été prélevés en pépinière et amenés au laboratoire, quelques instants après leur récolte, environ 10 mn (Figure 5). Des explants y ont été prélevés, réduits en petits formats à l'aide du scalpel, lavés à l'eau de robinet, puis trempés respectivement dans : l'alcool 70 ° pendant 1 mn; dans l'eau de Javel 9 °chl pendant 5 mn, et dans une solution d'amuchina 2,5% pendant 5 mn. Les explants ont ensuite subi 3 rinçages de 10 mn chacun à l'eau distillée stérile (Figure 6). Les explants issus de semis *in vitro* n'ont pas eu besoin de désinfection pour leur ensemencement.

Les dimensions moyennes des explants, après parage sont :

- Bourgeons apicaux : 0,6 cm de longueur et 0,2 cm de diamètre à la base (moyenne);
- Bourgeons axillaires : 0,5 cm de longueur et 0,2 cm d'épaisseur (moyenne).

Ensemencement d'explants

Les précautions à prendre pour l'ensemencement sont : la mise en marche de la hotte au moins 5 mn avant la mise en culture ; le port du masque ; la désinfection des mains et des avant-bras à l'eau + savon, puis leur friction à l'alcool 70 °C.

Les explants déjà désinfectés sont ensemencés sur les milieux gélosés sous la hotte à flux laminaire. Avec une pince bien stérilisée au stérilisateur à billes, on dépose un explant sur le milieu de culture avec le maximum de précautions (Figure 7). En effet, un contact doit être établi entre la base de l'explant et le milieu de culture, tout en veillant à ce que le bourgeon soit maintenu dans sa position initiale comme sur la plante-mère.

Les explants sont cultivés durant quatre semaines soit en tubes contenant 10 ml et / ou dans des bocaux contenant 55 ml de milieu de culture. Ils sont entreposés sur des étagères vitrées en chambre de culture à une température de 25 °C, une luminosité de 1 000 à 3 000 lux et une photopériode de 16 /24 heures (Figure 8).

Pour le besoin des opérations de suivi des essais, Il est absolument nécessaire d'identifier et de dater les tubes à essai par des étiquettes avant de ranger les explants en chambre de culture.

Suivi de désinfection d'explants

A la fin de la première et de la deuxième semaine d'ensemencement des explants en milieu d'initiation et prolifération, les traitements ont été contrôlés, afin de détecter d'éventuels cas de contaminations dues aux agents pathogènes. Une fiche de suivi a été élaborée à cet effet. Cette fiche porte les noms et les numéros des traitements, le nombre d'explants contaminés, la date d'observation et la description des éventuelles contaminations.

Suivi des essais d'initiation-prolifération

Chaque semaine et durant un mois, un suivi de la prolifération des explants en culture est effectué en vue de collecter des données quantitatives et qualitatives pour leurs analyses et interprétations. C'est ainsi que des observations ont porté sur :

- le délai ensemencement-reprise d'explants ;
- le nombre de feuilles / pousse ;
- le nombre de pousses ;
- la hauteur des pousses.

Repiquage des pousses pour leur enracinement

Le repiquage des pousses a immédiatement suivi l'essai d'initiation et prolifération d'explants. Les pousses ont été transférées sous hotte dans trois milieux d'enracinement préparés au préalable. Les bocaux, contenant chacun 55 ml de milieu et une pousse, ont été soigneusement étiquetés et rangés en chambre de culture pour une durée de quatre semaines.

Suivi d'enracinement des pousses

Chaque semaine, durant un mois, des suivis d'enracinement des pousses repiquées sont effectués en vue de collecter des données quantitatives et qualitatives pour leurs analyses et interprétations. C'est ainsi que des observations ont porté sur :

- le délai d'émission des racines par variété et par milieu d'enracinement ;
- le nombre de pousses enracinées par variété et par milieu d'enracinement ;
- le nombre de racines par pousse par variété et par milieu d'enracinement ;
- la longueur des racines par pousses par variété et par milieu d'enracinement.

Analyse statistique

Les données quantitatives ont été représentées sous forme de graphiques réalisés au logiciel Excel et interprétées.

Tableau 1 : Caractéristiques des variétés étudiées.

Variété Solo N °8 :	Variété Bluestem :
- fruits sucrés de chair orangée ; appréciés sur le marché national et international (exportation) ;	- gros fruits (500 g à + de 3 kg) de chair jaune, appréciés par les consommateurs locaux ;
- précoce ;	- moyennement précoce ;
- bonne adaptation aux conditions agro- climatiques de la zone d'étude (Katibougou) ;	- très bonne adaptation aux conditions agro- climatiques de la zone d'étude (Katibougou) ;
- rendement potentiel : 50 t / ha.	- rendement potentiel : 70 t / ha.

TECHNISEM- Mali, 2014 et notre enquête, 2014. Produits de désinfection d'explants.

Tableau 3 : Composition des milieux du 1^{er} essai d'initiation et prolifération.

N° des Milieux	Milieux de base	Myo- inositol mg/l	Adénine sulfaté mg/l	BAP mg/l	Kinétine mg/l	Sucre g/l	Gelrite g/l	pH
M1	MS	100	10	0,5	0			
M2	MS	100	10	0	4			
M3	B5*	100	10	0,5	0	30	2	5,7
M4	B5*	100	10	0	4			
M5	MWPM*	100	10	0,5	0			
M6	MWPM*	100	10	0	4			

La différence entre les milieux de culture se situe au niveau des milieux de base et des concentrations de BAP et de Kinétine.

Tableau 4 : Composition des milieux du 2^{ème} essai d'initiation et de prolifération.

N° des Milieux	Milieu de base	Myo- inositol mg/l	Adénine sulfaté mg/l	BAP mg/l	ANA mg/l	AIB mg/l	Sucre g/l	Gelrite g/l	pH
M1	MS	100	10	0,5	0	0			
M2	MS	100	10	0,3	0	0	30	2	5,7
M3	MS	100	10	0,5	0,1	0			
M4	MS	100	60	0	2	0,6			

La différence entre les milieux de culture se situe au niveau des concentrations de BAP, ANA, AIB et de l'adénine.

Tableau 5 : Composition des milieux d'enracinement.

N° des Milieux	Milieu de base	Myo-Inositol g/l	Adénine sulfaté mg/l	BAP mg/l	AIB mg/l	ANA mg/l	Sucre g/l	Gelrite g/l	pH
M1	MS	100	10	0,5	2	0			
M2	MS/2	100	10	0,5	2	0	30	2	5,7
M3	MS	100	10	0,5	0	1			

La différence entre les milieux de culture se situe au niveau des concentrations en BAP et d'ANA.

Tableau 6 : Contaminations d'explants en deux semaines d'ensemencement - Essai 1.

Variétés	Type d'explants	Total d'explants	Nombre d'explants contaminés durant l'initiation et prolifération			
			1 ^{ère} semaine	2 ^e semaine	Total	%
Solo N °8	Bourgeons apicaux	16	0	0	0	0
	Bourgeons axillaires	16	0	0*	0*	0*
Bluestem	Bourgeons apicaux	16	0	0	0	0
	Bourgeons axillaires	16	0	0*	0*	0*
Total	-	64	0	0*	0*	0*

Les contaminations d'explants ont été enregistrées au cours de la 2^{ème} semaine d'ensemencement pour les 2 variétés et les 2 types d'explants. Le pourcentage de contamination est de 10,41% pour l'essai 1. Ceci nous amène à la déduction suivante : les contaminations ne seraient pas dues à l'erreur de manipulation et / ou à la qualité de la formule de désinfection, mais plutôt à l'environnement de culture.

Tableau 7 : Contaminations d'explants en deux semaines d'ensemencement, Essai 2.

Variétés	Type d'explants	Total d'explants	Nombre d'explants contaminés durant l'initiation et prolifération			
			1 ^{ère} semaine	2 ^e semaine	Total	%
Solo N °8	Bourgeons apicaux	16	0	0	0	0
	Bourgeons axillaires	16	0	0*	0*	0*
Bluestem	Bourgeons apicaux	16	0	0	0	0
	Bourgeons axillaires	16	0	0*	0*	0*
Total	-	64	0	0*	0*	0*

*S'agissant de l'essai 2, un retard de 5 minutes de chronométrage au moment de la désinfection à l'eau de javel 9 °chl a occasionné la brûlure de tous les bourgeons axillaires. Cette brûlure a eu pour conséquence la non reprise des bourgeons axillaires en milieu d'initiation et prolifération. C'est ainsi que ces explants ont progressivement perdu leur chlorophylle, avant de mourir. Il faut noter cependant que les bourgeons apicaux n'ont pas été brûlés par cet excès de temps de trempage. Ces derniers ont repris et se sont proliférés normalement.

Tableau 10: Effets des milieux d'enracinement sur le délai d'émission des racines.

Variétés	Milieux d'enracinement	Nombre de jours observés avant émission de racines
Solo N °8	M1	18
	M2	-
	M3	-
Bluestem	M1	-
	M2	-
	M3	-

Le milieu M1 (MS+ 0,5 mg / l BAP + 2 mg / l AIB) a été le seul à induire de racines. 18 jours ont été observés pour l'émission de racines. Les deux autres milieux M2 (MS/2 + 0,5 mg / l BAP + 2 mg / l AIB) et M3 (MS+ 0,5 mg / l BAP + 1 mg / l d'ANA) n'ont émis aucune racine au bout de 4 semaines d'enracinement.

Tableau 11 : Effets des milieux sur l'enracinement des pousses.

Variétés	Milieu d'enracinement	Nombre de pousses enracinées	Nombre de racines	Longueur de racines (cm)
Solo N °8	M1	1	1	0,8
	M2	0	0	0
	M3	0	0	0
Bluestem	M1	0	0	0
	M2	0	0	0
	M3	0	0	0

Seul le milieu M1 (MS+ 0,5 mg / l BAP+ 2 mg / l AIB) a donné de racine. La racine émise a eu une longueur de 0,8 cm en 6 jours soit une croissance journalière de 1,3 mm.



Figure 1: Désinfectants utilisés : Alcool 70 ° ; Eau de javel 9 °chl ; Amuchina.



Figure 2 : Salle de préparation de milieux du Laboratoire.



Figures 3 : Pépinière de production d'explants 2 mois après semis.

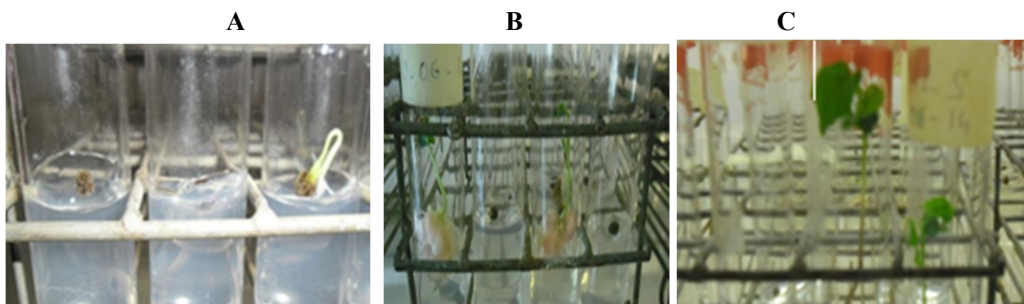


Figure 4 : Semis *in vitro* du papayer : **A** = Graines de papaye en germination. **B** et **C** = croissance des plantules sur milieu de culture MS + 0,3 mg/l d'ANA.



Figure 5 : Parage de fragments de plantule de papayer âgée de 3 mois pour le prélèvement d'explants.

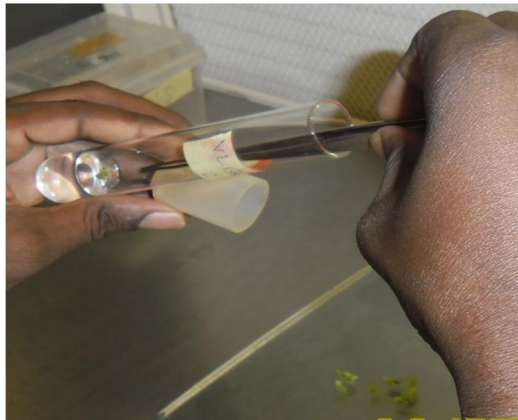


Figure 7 : Ensemencement d'explants.

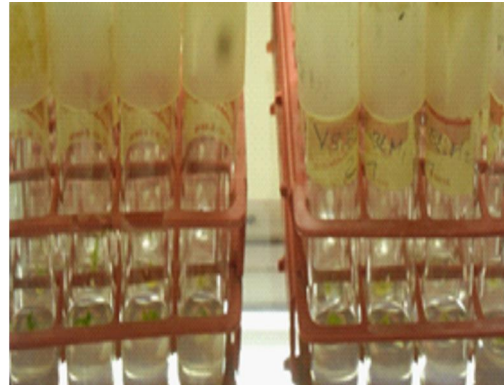


Figure 8 : Explants fraîchement ensemencés dans les milieux de culture.

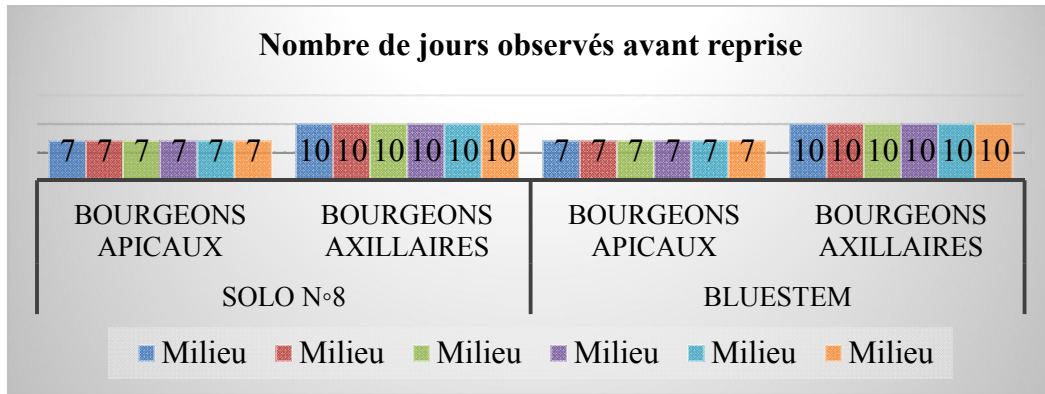


Figure 9 : Nombre de jours observés avant reprise d'explants/variété/ milieu, Essai 1. Les 2 types d'explants des 2 variétés ont le même délai ensemencement- reprise pour : 7 jours pour les bourgeons apicaux et 10 jours pour les bourgeons axillaires.

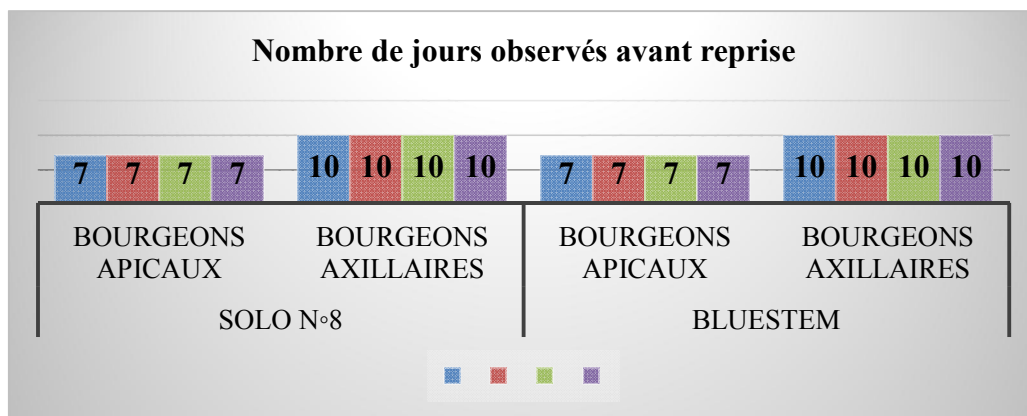
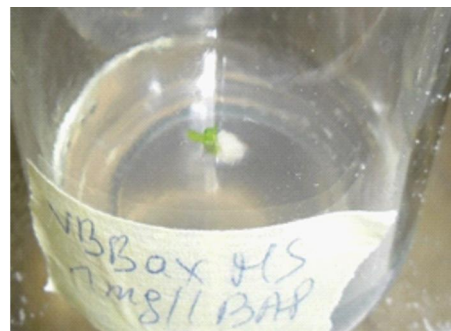


Figure 10 : Nombre de jours observés avant reprise d'explants/ variété / milieu, Essai 2.



A



B

Figure 11 : Croissance d'explants. **A** = Bourgeon apical à 3 semaines d'initiation et prolifération, **B** = Bourgeon axillaire à 3 semaines d'initiation et prolifération. Harouna, 2014.

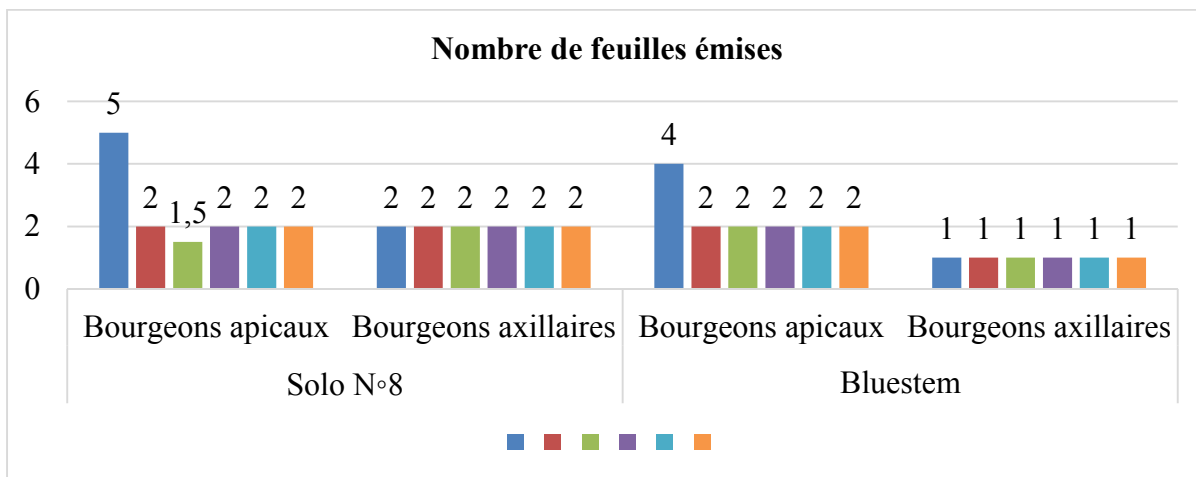


Figure 12 : Nombre de feuilles émises/ variété/ explant/ milieu de culture, Essai 1.

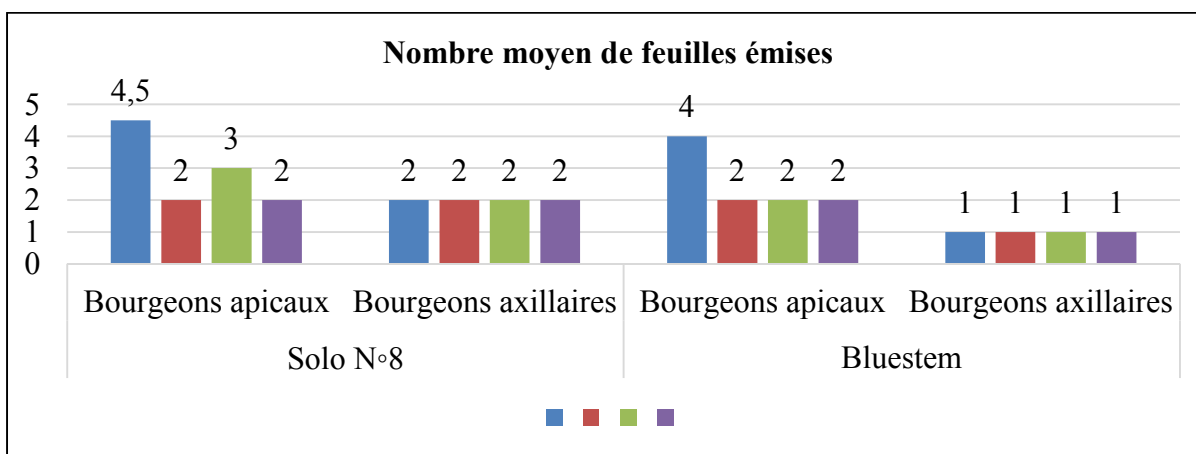


Figure 13 : Nombre moyen de feuilles émises par milieu, Essai 2.

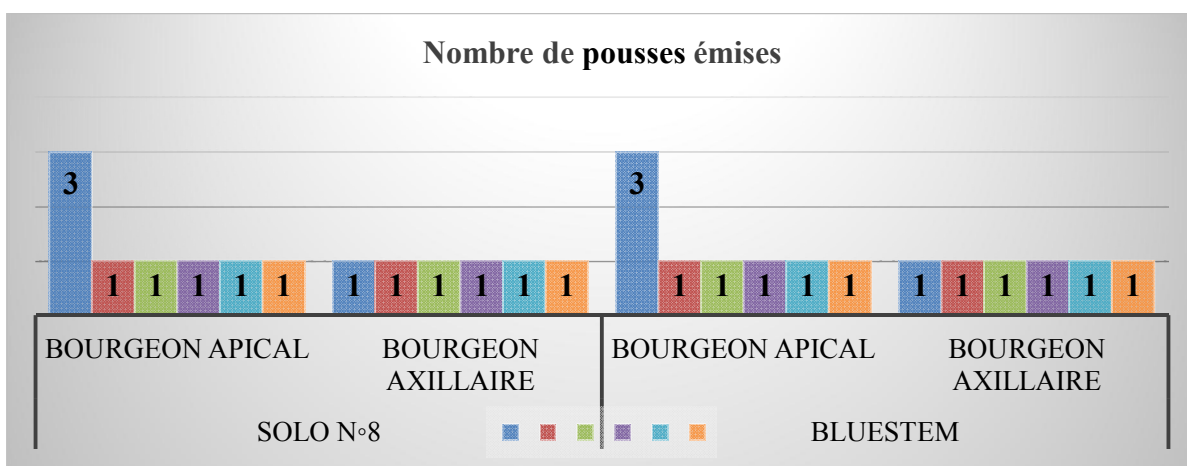


Figure 14 : Nombre de pousses émises par milieu, variété et type d'explant, Essai 1.

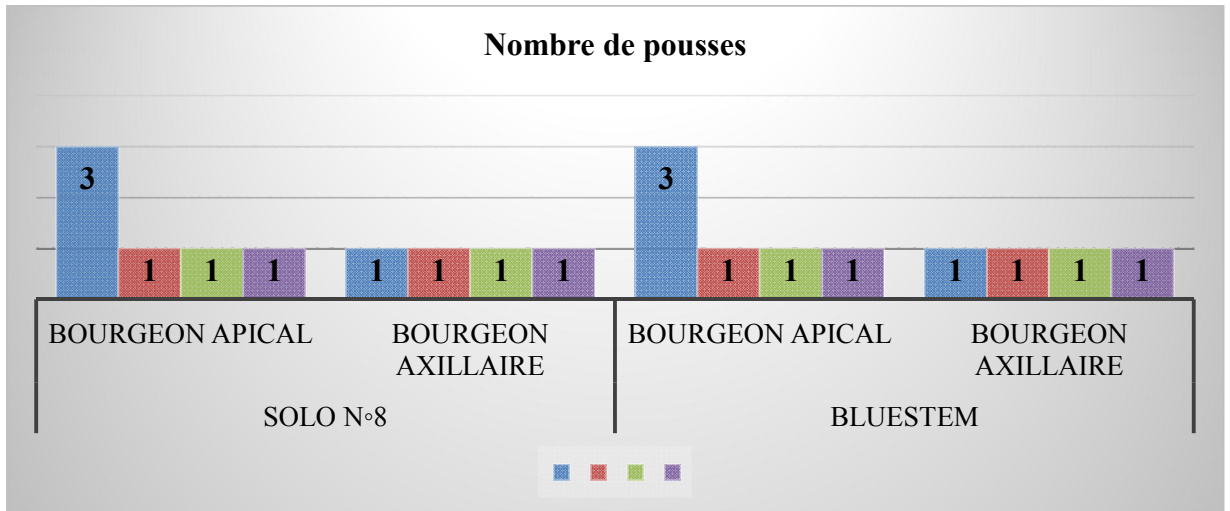


Figure 15 : Nombre de pousses émises par milieu, variété et type d'explant, Essai 2.

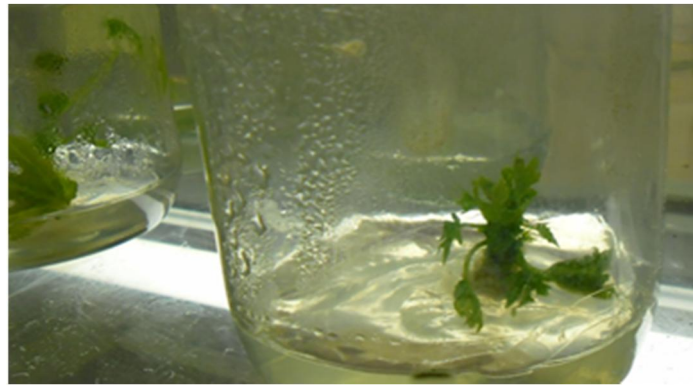


Figure 16 : Bourgeon apical de la variété Solo N °8 ayant donné 3 pousses, après 4 semaines de culture sur MS +0,5 mg / l de BAP.

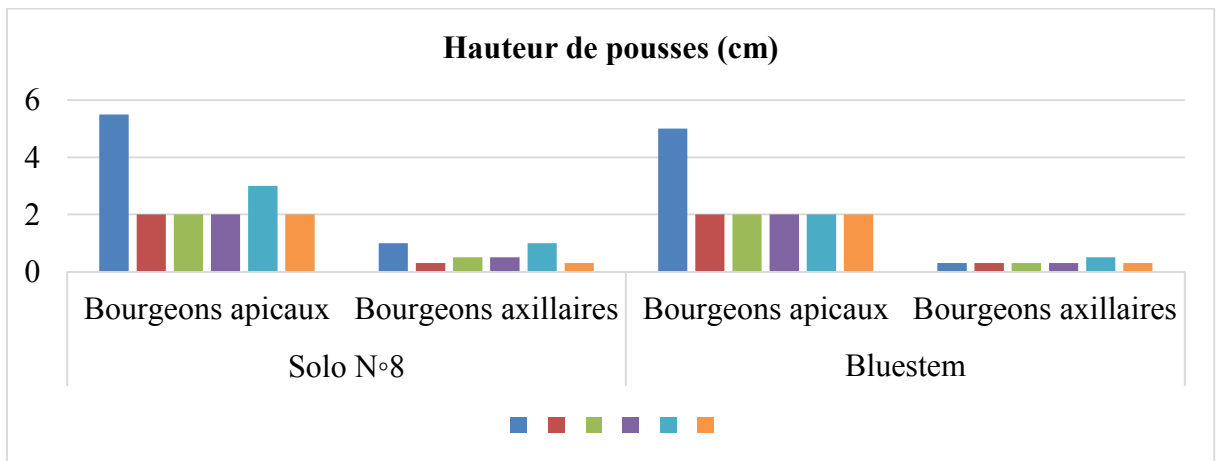


Figure 17 : Hauteur moyenne de pousses par milieu de culture, Essai 1.

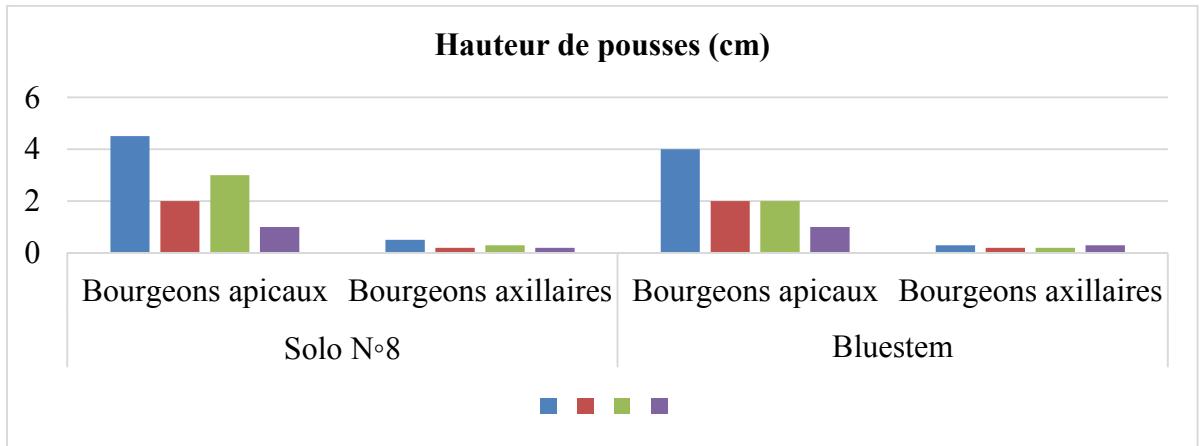


Figure 18 : Hauteur moyenne de pousses par milieu de culture, Essai 2.

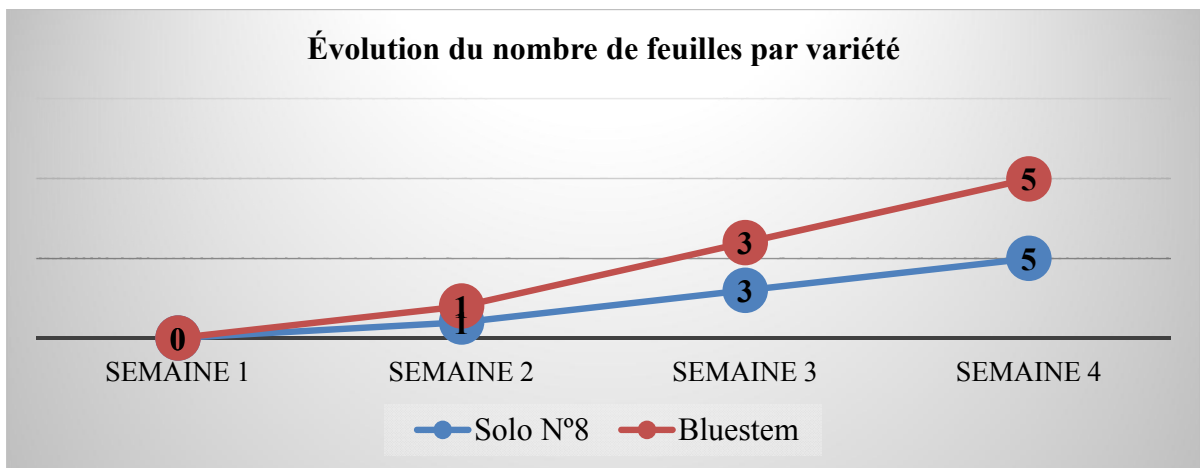


Figure 19 : Nombre de feuilles émises par variété et par semaine sur milieu M1.

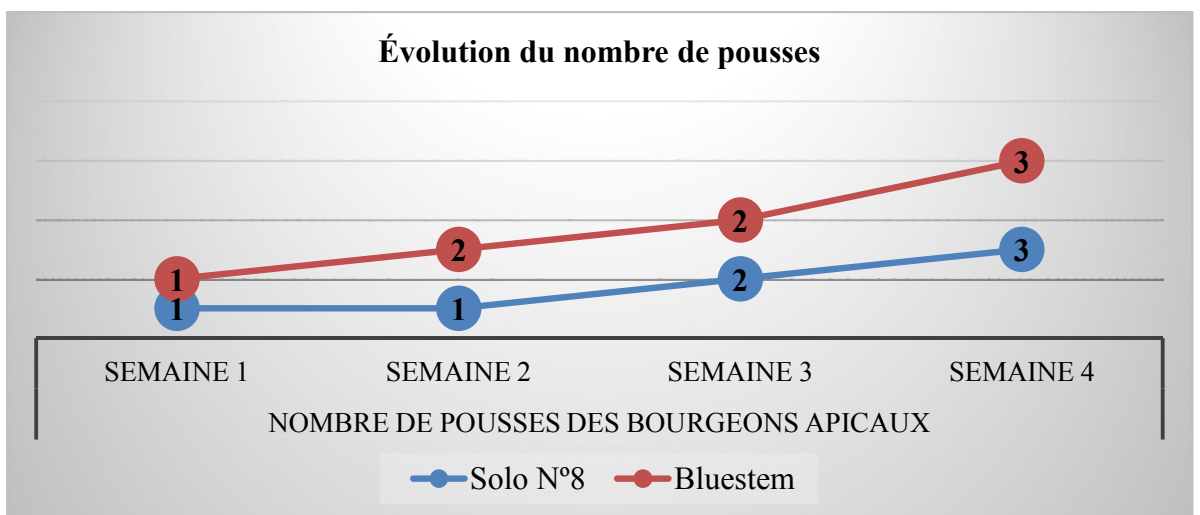


Figure 20 : Nombre de pousses émises par variété et par semaine sur milieu M1.

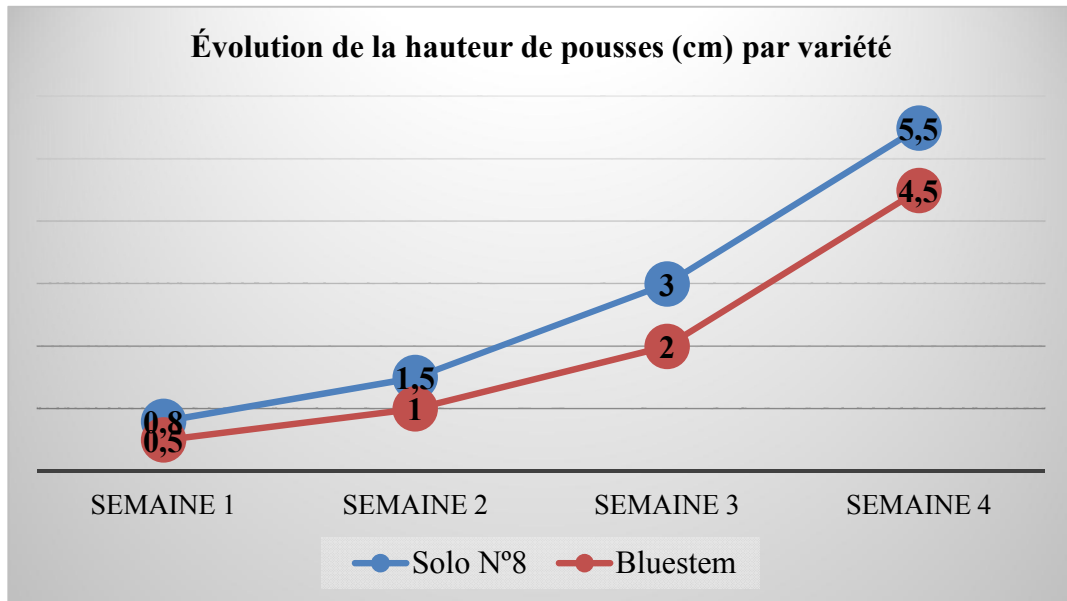


Figure 21 : Hauteur de pousses (cm) par variété et par semaine sur milieu M1.

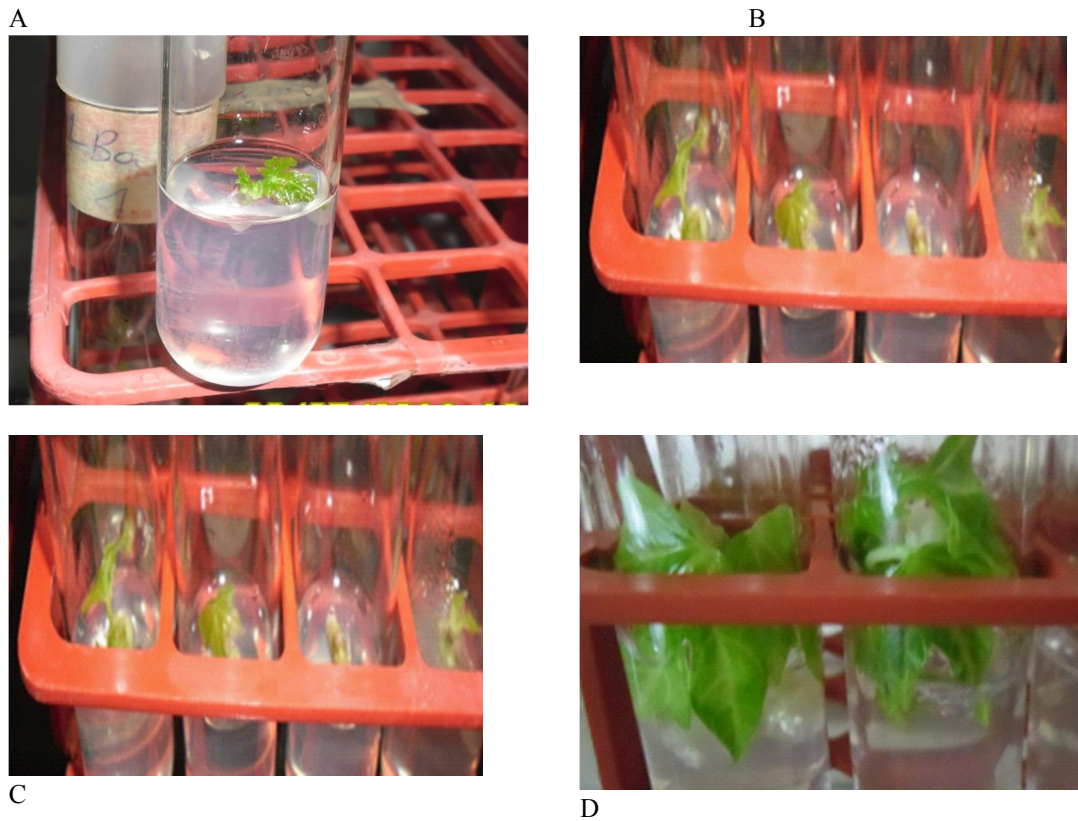


Figure 22: Évolution de la croissance d'explants. **A** = 1^{ère} semaine d'ensemencement d'explants; **B** = 2^{ème} semaine d'ensemencement (M1); **C** = 3^{ème} semaine d'ensemencement (M1); **D** = 4^{ème} semaine d'ensemencement (M1).



Figure 23 : Pousses de papayer issues de M1 après 3 jours de repiquage sur milieu d'enracinement.

RESULTATS

Désinfection sur la contamination d'explants

Suite à la désinfection d'explants, puis à leur ensemencement en milieu d'initiation et de prolifération, les résultats suivants ont été obtenus (Tableaux 6, 7).

Initiation et de prolifération sur la reprise d'explants

Effets des milieux sur la reprise d'explants par variété et par milieu, Essai 1 et Essai 2

Les (02) variétés ont induit la même durée pour la reprise des 2 types d'explants : 7 jours pour les bourgeons apicaux, 10 jours pour les bourgeons axillaires (Figure 11).

Essais d'initiation et prolifération sur l'émission des feuilles

Effets des milieux sur l'émission de feuilles par variété et type d'explant, Essai 1

Le milieu M1 (MS+ 0,5 mg/1 de BAP) a été plus pourvoyeur de feuilles (5). Il est suivi des milieux M5 (MWPM + 0,5 mg/l de BAP) et M3 (B5 + 0,5 mg/l de BAP) avec respectivement 3 et 2 feuilles, puis du M2 (MS + 4 mg / 1 de kinétine) avec 1,5 feuilles, et enfin des milieux M4 (B5 + 4 mg / 1 de

Kinétine) et M6 (MWPM + 4 mg / 1 de kinétine) avec 1 feuille chacun.

Les meilleurs traitements sont tous associés à la concentration 0,5 mg / 1 de la cytokinine 6-Benzylaminopurine (BAP).

La variété Solo N °8 a été légèrement en avance sur la variété Bluestem. Quant aux bourgeons apicaux, ils ont été nettement en avance sur les bourgeons axillaires sur le milieu M1, pour les deux variétés.

Effets des milieux sur l'émission de feuilles par variété et type d'explant-Essai 2

Le milieu M1 (MS+ 0,5 mg/1 de BAP) a donné le nombre moyen de feuilles le plus élevé (4,5). Il est suivi respectivement des milieux M3 (MS + 0,5 mg/l de BAP + 0,1 mg / 1 d'ANA) avec 3 feuilles, M2 (MS + 0,3 mg/l de BAP) avec 2 feuilles, et M4 (MS + 2mg / 1 d'ANA + 0,6 mg / 1 d'AIB) qui a émis 1 feuille.

Nous constatons également que les meilleurs traitements sont tous associés à la concentration 0,5 mg / 1 de la cytokinine 6-Benzylaminopurine (BAP).

Remarque : Les feuilles issues des milieux M3 et M5 ont eu une coloration jaune pâle.

Nous avons constaté que les variétés sont sensiblement égales en émission de feuilles (5 pour la Solo N°8 et 4,5 feuilles pour la Bluestem). Quant aux bourgeons apicaux, ils ont émis plus de feuilles (5 feuilles) que les bourgeons axillaires (2 feuilles). Cela a été remarqué sur la totalité des traitements. Ces résultats confirment les conclusions des travaux de Dam Thanh et al. (1997) et Naomi et al. (2013) qui ont précisé que le meilleur explant pour la micro propagation du papayer est le bourgeon apical.

Résultats des essais d'initiation et prolifération sur l'émission des pousses

Effets des milieux sur l'émission de pousses/ variété/ type d'explant-Essai 1

Pour les deux variétés, les bourgeons apicaux sont plus pourvoyeurs de pousses que les bourgeons axillaires. Le milieu M1, associé aux bourgeons apicaux des deux variétés, a induit le plus grand de pousses (3). Quant aux autres milieux, ils ont donné une seule pousse quelle que soit la variété et le type d'explant auxquels ils sont associés. Ceci étant, nous déduisons que le M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP) associé au bourgeon apical des deux variétés est la meilleure combinaison pour l'émission de pousse ; d'où elle est la plus favorable à la micro propagation du papayer, notamment à l'initiation et prolifération.

Remarque : Sur le meilleur milieu d'initiation et prolifération M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP), nous avons remarqué que les 2 variétés se valent en termes de capacité d'émission des pousses aussi bien pour les bourgeons apicaux que pour les bourgeons axillaires.

Sur les autres milieux (MS + 4 mg / l de Kinétine, B5 + 0,5 mg / l de BAP, B5 + 4 mg / l de Kinétine, et MWPM + 0,5 mg / l de BAP, MWPM + 4 mg / l de Kinétine), les explants ont émis une seule pousse chacun.

Effets des milieux sur l'émission de pousses/ variété/ type d'explant-Essai 2

Les bourgeons apicaux des deux variétés ont émis plus de pousses que les bourgeons axillaires. Le milieu M1 associé aux bourgeons apicaux des 2 variétés a donné

le plus grand nombre de pousses (3). Quant aux autres milieux, ils ont induit une seule pousse quelle que soit la variété et le type d'explant auxquels ils sont associés. Ceci étant, nous déduisons que le M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP) associé au bourgeon apical des deux variétés est la meilleure combinaison pour l'émission de pousse ; d'où elle est la plus favorable à la micro propagation du papayer, notamment à l'initiation et prolifération.

Essais d'initiation et prolifération sur la hauteur de pousses

Effets des milieux sur la hauteur de pousses/ variété/ type d'explant- Essai 1

Le milieu M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP) a induit la plus grande taille avec 5,5 cm de hauteur de pousse. Il est suivi du milieu M5 (MWPM + 0,5 mg / l) avec 3 cm de hauteur. Les autres milieux ont induit seulement 2 cm de hauteur de pousse.

Effets des milieux sur la hauteur de pousses/ variété/ type d'explant-Essai 2

Le milieu M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP) a été plus performant avec 4,5 cm de hauteur de pousse. Il est suivi respectivement des milieux M3 (MS + 0,5 mg / l de BAP + 0,1 mg / l) avec 3 cm ; M2 (MS + 0,3 mg / l de BAP) avec 2 cm ; et M4 (MS sans hormone) avec 1 cm de hauteur de pousse.

Remarque : Pour les deux variétés, les bourgeons apicaux ont induit la plus grande hauteur de pousse (5 cm) que les bourgeons axillaires (1,7 cm) ; ces premiers semblent par conséquent, plus aptes à la micro propagation du papayer, notamment à l'initiation et à la prolifération.

Le milieu M1 (MS + 0,5mg/l de BAP) a permis l'obtention du nombre de pousses le plus élevé à travers les deux essais d'initiation et de prolifération.

Nous avons également constaté que la vigueur des explants diminue suivant la chronologie des essais. En effet, les explants de l'essai 1 ont été plus vigoureux en prolifération que ceux de l'essai 2.

Évolution des explants sur milieu M1 (MS+0,5 mg/l BAP)

Évolution du nombre de feuilles émises par variété

L'évolution du nombre de feuilles est proportionnelle au nombre de semaines

Évolution du nombre de pousses des bourgeons apicaux

L'évolution du nombre de pousses reste stable jusqu'en 2^e semaine, avant de croître pendant les 3^e et 4^e semaines d'initiation et de prolifération d'explants.

Évolution de la hauteur de pousses par variété

L'évolution de la hauteur des pousses a été croissante au fil des semaines de mise en culture. La croissance moyenne d'une pousse est de 1,37 cm /semaine.

DISCUSSION

Les résultats des 2 essais d'initiation et de prolifération nous ont édifiés sur les points suivants :

- le milieu M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP) associé aux bourgeons apicaux des deux variétés a été le plus performant par rapport à tous les paramètres mesurés (nombre de feuilles, nombre de pousses, hauteur de pousses). Ces résultats sont concordants avec ceux de Dam Thanh et al. (1997), ainsi que ceux de Naomi et al. (2013) qui ont obtenu leurs meilleurs résultats d'initiation et de prolifération d'explants avec MS + 0,5 mg / l de BAP.

- s'agissant du type d'explant, les mêmes auteurs (Dam Thanh et al., 1997 ; Naomi et al., 2013) ont affirmé que le bourgeon apical est plus indiqué pour la micro-propagation du papayer. Les résultats auxquels nous sommes parvenus, sont également en conformité avec ceux de ces chercheurs sur ce sujet.

Nous notons cependant que le meilleur milieu de prolifération déterminé par SAKER et al. (1999), n'a pas donné les mêmes performances dans l'essai que nous avons réalisé (Essai 2). En effet, il a été beaucoup moins favorable à l'initiation et prolifération : il y a vraisemblablement, soit des

informations non élucidées ou des détails que nous n'avons peut-être pas pris en compte.

En ce qui concerne l'essai d'enracinement, le milieu M1 (MS + 0,5 mg / l de BAP + 2 mg / l d'AIB) a été le plus performant que les deux autres milieux M2 (MS /2 + 0,5 mg/l de BAP + 2 mg / l d'AIB) et M3 (MS + 0,5 mg / l de BAP + 1mg / l d'ANA). Notre meilleur résultat d'enracinement (MS + 0,5 mg / l de BAP + 2 mg / l d'AIB) a été différent de celui de Dam Thanh et al. (1997) qui ont obtenu le taux d'enracinement le plus élevé avec MS / 2 + 0,5 mg / l de BAP + 2 mg / l d'AIB. Par contre, le meilleur résultat d'enracinement obtenu par Naomi et al. (2013) (MS + 0,5 mg / l de BAP + 2,5 mg/l d'AIB) est proche de notre meilleur résultat (MS + 0,5 mg/l de BAP + 2 mg / l d'AIB). A cet effet, nous déduisons que l'association de la cytokinine BAP et de l'auxine AIB semble donner une bonne réponse à l'enracinement des pousses du papayer.

Conclusion

Au terme de huit mois de travaux sur la micro propagation de deux variétés de papayer (*Carica papaya* L.) au Laboratoire d'Agro-Physio-Génétique et de Biotechnologies Végétales de l'IPR/ IFRA de Katibougou, nous tirons les enseignements sur le taux de contamination d'explants qui, après deux semaines de leur désinfection et ensemencement, a été en moyenne de 10,41% ; d'où nous concluons que la désinfection a été efficace ; parmi les trois milieux de base d'initiation et prolifération (MS medium, B5, MWPM), MS medium s'est avéré le meilleur pour la micro propagation du papayer et au bout de quatre semaines d'initiation et prolifération d'explants : le meilleur milieu a été le MS + 0,5 mg / l de BAP. Il est suivi des milieux MWPM + 0,5 mg / l de BAP et B5 + 0,5 mg / l de BAP, MS + 0,5 mg / l de BAP + 0,1 mg / l d'ANA, MS + 0,3 mg / l de BAP et enfin du MS + 2 mg / l d'ANA + 0,6 mg / l d'AIB.

Ces résultats nous confortent à déduire que la concentration 0,5 mg/l de BAP semble

être favorable à l'initiation et prolifération d'explants du papayer. De même, nous avons constaté que le bourgeon apical est plus favorable que le bourgeon axillaire, en émission de pousses et de feuilles.

S'agissant des deux variétés, nous avons remarqué qu'elles se valent en termes d'initiation et prolifération.

A l'issue de quatre semaines de repiquage de pousses, le milieu d'enracinement MS + 0,5 mg/l de BAP + 2 mg / l d'AIB a été le seul ayant induit de racines parmi les 3 milieux comparés.

Pour garantir une levée précoce et homogène des graines de papayer destinées à la production d'explants, il s'avère indispensable de procéder à leur prétraitement à l'eau, ou toute autre substance appropriée.

L'opérateur de culture *in vitro* doit nécessairement respecter la position de l'explant et/ou celle de la pousse sur le milieu gélosé. En effet, l'explant et / ou la pousse doit être déposé de manière à ce que la partie incisée soit en contact avec le milieu de culture, et la partie méristématique orientée vers le haut.

REFERENCES

- Blein R, Soule BG, Dupaigne BF, Yerima B, 2008. Les potentialités agricoles de l'Afrique de l'Ouest (CEDEAO), 113 p.
- CIDES. 1999. Centre d'information et de développement expérimental en sericulture. Micro propagation pour l'entreprise sericole- Cahier de références techniques, 44 p.
- CILSS. 2004. Normes de consommation des principaux produits alimentaires dans les pays du CILSS. p 44.
- CIRAD- GRET. 2006. Mémento de l'agronome, pp. 994 - 997.
- Dam Thanh G, Le Thi AH. 1997. Multiplication *in vitro* du papayer au Vietnam, 209-212.
- Dembélé D. 2012. Test d'assainissement et de micro propagation d'une variété de papayer (*Carica papaya* L.), Rapport de fin de cycle, 29 p.
- Fabert C-M. 2011. Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, le papayer, *Carica papaya* L., de la médecine traditionnelle à la médecine actuelle. Études botanique et pharmacognosique, 119 p.
- FAOSTAT. 2014. Superficies, rendement et production de papaye au Monde, Afrique, et Mali. FAOSTAT OAA Division de la Statistique 22 août 2014.
- Fournet J. 2002. Flore illustrée des phanérogames de Guadeloupe et de Martinique. Nouvelle édition revue et augmentée. CIRAD, Gondwana Editions, La Trinité : Montpellier ; 2538 p.
- Hamdani FZ. 2001. Régénération via l'organogénèse ou l'embryogénèse somatique chez le Scorpiurus, Mémoire online, 11 p.
- Naomi NM, Fredah KR, George EM, Agnes WK. 2013. *In vitro* regeneration of selected Kenyan papaya (*Carica papaya* L.) lines through shoot tip culture, 7p.
- PIP. 2011. Itinéraire Technique Papaye (*Carica papaya* L.), 54 p.
- PCDA (Programme de Compétitivité et de Diversifications Agricoles). 2010. Plan d'activités prioritaires – Filière papaye, 2009-2010, 46 p.
- Saker MM, Bekheet SA, Taha HS, REDA AA. 1999. *In vitro* propagation of papaya (*Carica papaya* L.), 4p.
- TECHNISEM. 2014. Fiche technique de la variété Solo N°8, 3 p.